

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: B200425053

UDC _____

厦门大学

博士学位论文

手性双氨基酸五配位氢膦烷的
立体化学研究

The Stereochemistry of Chiral Bisamino Acyl
Pentacoordinate Spirophosphoranes

侯建波

指导教师姓名: 赵玉芬教授

专业名称: 化学生物学

论文提交日期: 2009年7月

论文答辩日期: 2009年7月

学位授予日期: 2009年 月

答辩委员会主席: _____

评阅人: _____

2009年7月

*The Stereochemistry of Chiral Bisamino Acyl
Pentacoordinate Spirophosphoranes*

Dissertation Submitted to

Xiamen University

In partial fulfillment of the requirement

for the degree of

Doctor of Nature Science

By

Jian-Bo Hou

(Chemical Biology, Organic Chemistry)

Dissertation Supervisor: Professor Yu-Fen Zhao

At

Department of Chemistry, Xiamen University

July, 2009

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

五配位磷化合物作为中间体或过渡态在生物学过程中被广泛的提出。本论文以氨基酸为原料合成并分离出 16 个单一绝对构型的双氨基酸五配位氢膦烷, 通过高效液相色谱 (HPLC)、核磁共振波谱 (NMR)、X-射线单晶衍射技术、圆二色光谱 (CD)、电喷雾质谱 (ESI-MS) 以及量子化学理论计算等分析手段对它们的立体结构进行了系统的研究。

本论文通过 *L*-型氨基酸与 PCl_3 反应可以获得一对双氨基酸五配位氢膦烷的非对映异构体, 与之类似, *D*-型氨基酸与 PCl_3 反应可以获得另外一对双氨基酸五配位氢膦烷的非对映异构体。这些非对映异构体都可以利用非手性 HPLC 进行有效的分离 (纯度大于 99.5 %)。固体 CD 光谱证明它们双双成对映异构体的关系, 在非手性 HPLC 中有相同的保留时间及相似的波谱数据。

^1H - ^1H COSY 实验发现其中一类双氨基酸五配位氢膦烷中氨基酸侧链 $\alpha\text{-CH}$ 与 PH 之间具有远程相关作用, $^4J_{\text{H-C-N-P-H}}$ 为 2.4 Hz。量子化学理论计算表明在双氨基酸五配位氢膦烷的非对映异构体之间, P-H 键与氨基酸侧链 α -位碳原子的 C-H 键空间伸展方向不同, 进而造成了 ^1H - ^1H COSY 信号的差异, $^4J_{\text{H-C-N-P-H}}$ 分别为 2.5 或 0.5 Hz。

^{31}P NMR 和 ^1H NMR 跟踪测试表明该系列化合物各单一绝对构型在中性有机溶剂 DMSO-d_6 或 CDCl_3 中, 室温条件下, 40 天内可以稳定不变。高纯度和较好的稳定性为绝对构型研究结论的可靠性和有效性奠定了很好的基础。

X-射线单晶衍射技术对获得晶体结构的 8 个双氨基酸五配位氢膦烷的结构进行解析, 确定该系列化合物中心磷原子属于三角双锥构型, H 原子和两个 N 原子在平伏键上, 两个 O 原子在直立键上。在此基础上, 借鉴配位化合物的命名规则, 对其绝对构型进行命名, 并通过固体 CD 光谱以及 ^1H NMR 对所有化合物的绝对构型进行关联。

本论文还系统的对 $^1J_{\text{P-X}}$ ($\text{X} = \text{H}, \text{N}$) 进行了研究, 实验测试表明: $^1J_{\text{P-H}}$ 耦合常数的数值在四配位磷化合物中约为 700 Hz 小于在双氨基酸五配位氢膦烷中约为 800 Hz 的数值, 而 $^1J_{\text{P-N}}$ 耦合常数的数值在四配位磷化合物中约为 41 Hz 却大于

在双氨基酸五配位氢膦烷中约为 32 Hz 的数值。利用量子化学理论计算, 通过 DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) 对化合物的几何结构进行优化, 再用 DFT/B3LYP/IGLO III 对其进行耦合常数的计算获得了与实验测试相同的结论, 研究表明在双氨基酸五配位氢膦烷中, P-N 键具有双键的性质, 从而降低了化学键中 s 轨道的比例, 进而降低了相应的 $^1J_{P-N}$ 耦合常数数值。

对双氨基酸五配位氢膦烷固体 CD 和溶液 CD 的测试, 以及对双缬(亮)氨酸五配位氢膦烷的 CD 光谱进行理论计算研究, 确定了氨基酸侧链为饱和脂肪链的双氨基酸五配位氢膦烷的 CD 信号受到中心手性磷原子与氨基酸侧链 α -位手性碳原子的共同影响。由于在不同构型中两类手性原子对 CD 光谱的贡献不同, 所以在非对映异构体之间 CD 光谱的最大吸收峰位置和吸收强度都有明显的差异。

最后, 对双氨基酸五配位氢膦烷进行电喷雾多级质谱裂解规律研究发现, 单纯的通过多级质谱裂解无法区分化合物的手性。在正离子模式下 ($[M+H]^+$ 或 $[M+Na]^+$), 氨基酸侧链对相应的亚胺离子具有明显的稳定作用, 伴随着氨基酸侧链变大 (特别是苯环基团存在时), 亚胺离子的稳定性明显增强并影响多级质谱的裂解规律。在负离子模式下 ($[M-H]^-$), 对于双苯甘氨酸五配位氢膦烷因为苯环直接连接在化合物的螺环上, 从而使得苯环在稳定该类化合物的负离子碎片上具有重要的作用, 并表现出不同的裂解方式。

本论文充分发挥各种立体化学研究方法的优点, 从多角度对手性双氨基酸五配位氢膦烷的结构进行探讨, 并运用量子化学理论计算的方法对实验测试获得的数据进行合理的解释。

关键词: 双氨基酸五配位氢膦烷; 手性; 绝对构型

Abstract

Pentacoordinate phosphorus compounds as intermediates or transition state species are proposed in numerous biological processes. In this thesis, sixteen isomers of chiral bisamino acyl pentacoordinate spiroposphoranes derived from *L*- or *D*-amino acids were synthesized and separated, respectively. To investigate the stereochemistry of chiral bisamino acyl pentacoordinate spiroposphoranes systematically, these isomers were characterised by high performance liquid chromatography (HPLC), nuclear magnetic resonance (NMR), single crystal X-ray diffraction, circular dichroism (CD), electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) and the theoretical calculation of quantum chemistry.

First of all, two sets of diastereoisomers of chiral bisamino acyl pentacoordinate spiroposphoranes derived from the reactions of *L*- or *D*-amino acids and PCl_3 . These diastereoisomers could be separated by achiral HPLC with the purity of 99.5 %. The solid-state CD spectra of enantiomers displayed virtually mirror images of each other, and showed the same retention times of achiral HPLC and similar NMR spectra, respectively.

The ^1H - ^1H COSY spectra of these compounds identified an interaction between the P-H proton and the α -hydrogen of amino acids, thus establishing unusual coupling through four bonds for these species with $^4J_{\text{H-C-N-P-H}}$ 2.4 Hz. This phenomenon was confirmed by the theoretical calculation of quantum chemistry. For diastereoisomers, the difference of the extensional orientation of P-H and C-H bond, which result in the difference of the ^1H - ^1H COSY and the coupling of $^4J_{\text{H-C-N-P-H}}$ was 2.5 or 0.5 Hz.

Potential epimerization of these isomers were monitored by ^{31}P and ^1H NMR at rt using DMSO-d_6 or CDCl_3 as solvents to investigated the stability of these bisamino acyl pentacoordinate spiroposphoranes. No epimerization was observed over a period of forty days. The high enantiopurity and good configurational stability of these isomers is essential for the following stereochemistry study.

The absolute configurations of these chiral bisamino acyl pentacoordinate spiroposphoranes were proven when eight crystal structures were characterized by single crystal X-ray diffraction analysis. These compounds arranged in a distorted TBP geometry. Two nitrogen atoms and a hydrogen atom form an equator plane and two oxygen atoms are in apical positions. Base on these data, we adopted the nomenclature

system for coordination compound $[MX(AB)_2]$ (AB = hetero-bidentate ligand) with a TBP geometry to determine the absolute configuration of the phosphorus center. And then the absolute configurations of all compounds were correlated with solid-state CD and 1H NMR spectroscopy.

The difference of $^1J_{P-H}$ and $^1J_{P-N}$ between the bisamino acyl pentacoordinate spirophosphoranes P(V) and tetracoordinate phosphorus compounds P(IV) were also discussed. The experimental results showed that $^1J_{P(IV)-H}$ (~ 700 Hz) $<$ $^1J_{P(V)-H}$ (~ 800 Hz); but $^1J_{P(IV)-N}$ (~ 41 Hz) $>$ $^1J_{P(V)-N}$ (~ 32 Hz). After the geometry was optimized by DFT/B3LYP/6-31+G(d,p), DFT/B3LYP/IGLO III was used to calculate the $^1J_{P-X}$, it is showed that the P-N bond displayed a nature of double bond which decreased the percent of s orbit, which resulted in the decrease of the $^1J_{P-N}$ value.

Meanwhile, the solid-state and solution CD of bisamino acyl pentacoordinate spirophosphoranes were measured, combined with the theoretical calculations of CD spectra of bisvalinyl or bisleucinyl pentacoordinate spirophosphoranes. We proposed that for the bisamino acyl pentacoordinate spirophosphoranes, when the side-chain of amino acid was a saturated fatty chain, the signs of CD was controlled by both the chirality of phosphorus atom and α -carbons of the amino acids. In addition, the electronic transition of these compounds were also discussed.

Finally, the bisamino acyl pentacoordinate spirophosphoranes were investigated by ESI-MS. It was found that the MS/MS can not distinguish the chirality of compounds effectively. In tandem mass of positive ion ($[M+H]^+$ or $[M+Na]^+$), the side-chain of amino acid could stabilize the imine ion and influence the fragmentation patterns, especially the existence of phenyl ring side-chain. In tandem mass of negative ion ($[M-H]^-$) for bisphenylglycinyl pentacoordinate spirophosphoranes, the phenyl ring was conjugated to the spiro ring, which could stabilize the fragment ions and displayed different fragmentation pathways.

In conclusion, the stereochemistry of chiral bisamino acyl pentacoordinate spirophosphoranes were discussed by several methods. By the theoretical calculation of quantum chemistry, the spectra of 1H NMR and CD was explained reasonably.

Keywords: Bisamino Acyl Pentacoordinate Spirophosphoranes; Chirality;
Absolute Configuration

英文缩写符号表

符号	英文全称	中文名称
[α]	Optical Rotation	旋光
ADP	Adenosine Diphosphate	二磷酸腺苷
ATP	Adenosine Triphosphate	三磷酸腺苷
BPR	Berry Pseudorotation	Berry 假旋转
cAMP	3', 5'-Adenosine Monophosphate	环腺嘌呤单核苷酸
CD	Circular Dichroism	圆二色
CE	Cotton Effect	Cotton 效应
cGMP	3', 5'-Guanosine Monophosphate	环鸟嘌呤单核苷酸
CI	Chemical Ionization	化学电离
CID	Collision Induced Dissociation	碰撞诱导解离
CMPA	Chiral Mobile Phase Additives	手性流动相添加剂
COSY	Correlated Spectroscopy	相关谱
CSP	Chiral Stationary Phase	手性固定相
δ	Chemical Shift	化学位移
d	Doublet	二重峰
DBPH	Dibutyl Phosphonate	二正丁基亚磷酸酯
dd	Double of Doublet	双二重峰
DEPH	Diethyl Phosphonate	二乙基亚磷酸酯
DFT	Density Functional Theory	电子密度泛函理论
DIPP-	Diisopropylphosphoryl	二异丙氧基磷酰基
DIPPH	Diisopropyl Phosphonate	二异丙基亚磷酸酯
DMP-	Dimethylphosphoryl	二甲氧基磷酰基
DMPH	Dimethyl Phosphonate	二甲基亚磷酸酯
DNA	Deoxyribonucleic Acid	脱氧核糖核苷酸
dt	Double of Triplet	双三重峰
EI	Electron Impact Ionization	电子轰击电离

ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrometry	电喷雾质谱
FAB	Fast Atom Bombardment	快原子轰击
FT-MS	Fourier Transform Mass Spectrometer	傅立叶变换质量分析器
<i>J</i>	Spin-spin Coupling Constants	耦合常数
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高效液相色谱
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry	高分辨质谱
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital	最高占据轨道
Ile	Isoleucine	异亮氨酸
Leu	Leucine	亮氨酸
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital	最低空轨道
m	Multiplet	多重峰
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization	基质辅助激光解吸电离
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	核磁共振
ORD	Optical Rotatory Dispersion	旋光色散
PDB	Protein Data Bank	蛋白数据库
Phe	Phenylalanine	苯丙氨酸
PhGly	Phenylglycine	苯甘氨酸
PKA	Protein Kinase A	蛋白激酶 A
PGM	Phosphoglucosyltransferase	葡萄糖磷酸变位酶
PTKs	Protein Tyrosine Kinase	酪氨酸激酶
PTPases	Protein Tyrosine Phosphatases	酪氨酸磷酸酯酶
RNA	Ribonucleic Acid	核糖核苷酸
SP	Square Pyramid	四方锥
t	Triplet	三重峰
TBP	Trigonal Bipyramid	三角双锥
TDDFT	Time Dependent Density Functional Theory	含时密度泛函理论
TOF-MS	Time of Flight Mass Spectrometry	飞行时间质谱
TR	Turnstile Rotation	转门旋转
Val	Valine	缬氨酸

目 录

中文摘要

英文摘要

英文缩写符号表

第一章 绪 论

1.1 磷在生命体中的重要作用	1
1.2 生物化学过程中的高配位磷现象	2
1.2.1 生物化学过程中的磷酸基转移机理	2
1.2.2 RNA 水解过程的化学本质与五配位磷现象	3
1.2.2.1 RNA 的非酶促水解过程与五配位磷现象研究	4
1.2.2.2 RNA 的酶促水解过程与五配位磷现象研究	6
1.2.2.3 cAMP 参与的生化过程与五配位磷现象研究	8
1.2.3 蛋白磷酸化和去磷酸基过程中的五配位磷现象研究	10
1.2.3.1 PKA 参与蛋白磷酸化过程中的五配位磷现象	10
1.2.3.2 蛋白酪氨酸酶去磷酸化过程中的五配位磷现象	13
1.2.4 葡萄糖变构酶作用过程中的五配位现象	15
1.2.5 N-磷酸化氨基酸各种性质中的五配位磷现象	18
1.3 五配位磷化合物(磷烷)的结构特点与性质	22
1.3.1 磷原子的结构特征	22
1.3.2 磷烷的空间构型	23
1.3.3 磷烷三角双锥构型的亲顶性原则和小环取向原则	24
1.3.3.1 磷烷三角双锥构型的亲顶性原则	24
1.3.3.2 磷烷三角双锥构型的小环取向原则	25
1.3.4 磷烷三角双锥构型假旋转机理研究	25
1.3.4.1 Berry 假旋转(Berry Pseudorotation, BPR)机理研究	26

1.3.4.2 转门旋转(Turnstile Rotation, TR)机理研究	27
1.3.5 氢膦烷的化学反应活性	29
1.4 五配位磷化合物的手性问题	30
1.4.1 立体化学中手性研究的意义	31
1.4.2 手性拆分的主要方法	32
1.4.3 五配位磷化合物的手性分离与研究	33
1.5 博士论文的主要研究内容	33
参考文献	35

第二章 实验部分

2.1 试剂	45
2.2 仪器	45
2.3 化合物的合成	46
2.3.1 双氨基酸五配位氢膦烷的合成	46
2.3.2 二烷氧基亚磷酸酯的合成	48
2.3.3 N-磷酰化氨基酸甲酯的合成	49
2.4 化合物的数据表征	50
2.5 部分化合物的晶体数据	62
2.5.1 双缬氨酸五配位氢膦烷(Δ_P, S_C, S_C)构型 3a 的晶体数据	62
2.5.2 双缬氨酸五配位氢膦烷(Δ_P, R_C, R_C)构型 4a 的晶体数据	65
2.5.3 双苯甘氨酸五配位氢膦烷(Δ_P, S_C, S_C)构型 7a 的晶体数据	68
2.5.4 双苯甘氨酸五配位氢膦烷(Δ_P, S_C, S_C)构型 7b 的晶体数据	71
2.5.5 双苯甘氨酸五配位氢膦烷(Δ_P, R_C, R_C)构型 8a 的晶体数据	74
2.5.6 双苯甘氨酸五配位氢膦烷(Δ_P, R_C, R_C)构型 8b 的晶体数据	77
2.5.7 双苯丙氨酸五配位氢膦烷(Δ_P, S_C, S_C)构型 9a 的晶体数据	80
2.5.8 双苯丙氨酸五配位氢膦烷(Δ_P, R_C, R_C)构型 10a 的晶体数据	83
参考文献	86

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕